



91998000385900A702800000000050307PCTKR2004002255

[별지 제65호의54 서식]

| P C T | | |
|-------|-----|-------|
| 방식 | 담 당 | 심 사 관 |
| 심사관 | | |

【Title of Document】 SUBMISSION OF ARGUMENT

【Receiver】 Commissioner of the Korean Intellectual Property Office

【Identification of International Application】

【International Application No.】 PCT/KR2004/002255

【International Filing Date】 2004.09.06

【Priority Date】 2003.09.06

【Applicant】

【Name】 OSCOTEC INC. et al.

【Address】 2-17, Omok-ri, Seonggeo-eup, Cheonan-si,

Chungcheongnam-do 330-831, Republic of Korea

【Tel. No.】 82-2-3453-0507

【Applicant 's code】 1-1999-036103-0

【State of Nationality】 KR

【Agent】

【Name】 LEE, Won-Hee

【Address】 8th Fl., Sung-ji Heights II, 642-16 Yoksam-dong,

Kangnam-ku, 135-080, Seoul, Republic of Korea

【Tel. No.】 82-2-3453-0507

【Fax No.】 82-2-3453-8155

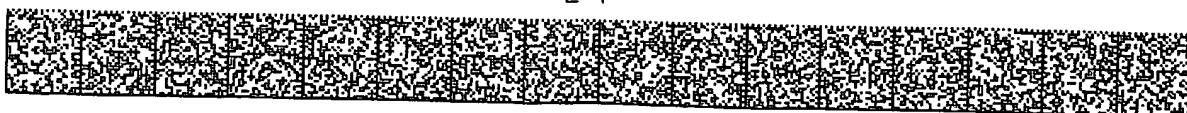
【Agent 's Code】 9-1998-000385-9

【Date of Invitation】

【Purport】 Submitted hereby is an argument or correction pursuant to
Article 106-40(5) of the Enforcement Regulations of the
Patent Law.

Agent

LEE, Won-Hee (Seal)



【Attached Document(s)】 1.other attached document_1Copies



의견내용

I. 국제조사기관의 견해서 내용

본 발명은 삼칠근(*Notoginseng Radix = Panax notoginseng*)을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

하기 문헌들이 보고서의 목적을 위하여 고려되었다.

D1 = JP 11-139979 A (1999. 05. 25)

D2 = Zhongguo Zhong Xi Yi He Zhi, 14(1), 3506, 5-6 (1994)

D3 = Zhongguo Yao Li Xue Bao, 26(6), 55-14 (1999)

1) 신규성 & 진보성

D1은 유효 성분으로 전칠삼(*Panax notoginseng*)을 포함하는 면역 체계 및 급성 류마티스 관절염의 예방 및 치료용 조성물을 밝히고 있다.

그러므로, 청구항 1-5의 특허 대상은 신규하거나 진보적이지 않다(PCT 조항 32(2) 및 33(3)).

D2는 전칠삼(*Panax notoginseng*)의 총 사포닌이 항염증, 무통증 및 면역조절 활성이 있음을 진술하고 있다.

D3은 전칠삼(*Panax notoginseng*)의 총 사포닌이 급성 염증의 랫트에 항염증 효과가 있음을 진술하고 있다.

비록 D2 및 D3가 직접적으로 관절염을 명시하지는 않았으나, 당업계의 숙련된 사람은 인용문헌 D2 및 D3으로부터 항염증, 무통증 및 면역조절 활성이 있는 전칠삼 추출물이 관절염의 예방 및 치료에 유용할 것이라는 사실을 쉽게 예측할 수 있다.

더욱이, 본 발명의 출원인은 본 발명에서 삼칠근(*Panax notoginseng*)의 RF1MB4b 분획이 D2 및 D3의 전칠삼(*Panax notoginseng*)의 총 사포닌에 비해 약학적 효과가 향상되었음을 나타내는 자료를 제시하지 않았다.

결론적으로, 상기 청구항 1-5의 특허 대상은 진보성의 요구를 충족시키지 못한 것으로 사료된다(PCT 조항 33(3)).

2) 산업상 이용 가능성

청구항 1-5는 PCT 조항 33(4)의 기준을 만족시킨다.

3) 기타 국제출원에 대한 견해

9페이지 21번째 줄에서, "FF1M"이 "RF1M"으로 수정되어야 한다.

II. 특허청구범위의 보정

심사관님의 견해에 수긍하여, 원출원의 제1항을

"삼칠근 추출물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성물."이었던 것을,

"삼칠근의 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물을 유효성분으로 함유하는 관절염 예방 및 치료용 조성물."로 보정하였습니다.

또한, 원출원의 제2항을

"제1항에 있어서, 상기 삼칠근의 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물은 삼칠근을 에탄올로 추출하여 에탄올 추출물을 얻는 단계;

상기 에탄올 추출물로부터 n-부탄올을 이용하여 n-부탄올 분획물을 얻는 단계;

상기 n-부탄올 분획물을 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 중간 정제물을 얻는 단계; 및

상기 중간 정제물을 컬럼 크로마토그래피로 분리하여 삼칠근의 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물을 얻는 단계를 포함하여 얻어지는 것을 특징으로 하는 관절염 예방 및 치료용 조성물."로 보정하였습니다.

III. 출원인의 의견

본 출원인은 청구범위를 보정한 보정서를 기반으로 본원발명과 D1, D2, D3를 목적, 구성, 효과의 면에서 다음과 같이 구체적으로 대비하여 차이점 내지 진보성에 관한 의견을 개진하려 합니다.

가. 본원발명과 D1, D2, D3의 구성의 대비

국제조사기관의 견해에서 지적된 바와 같이, 비록 간단하게 기재되어 있기는 하지만 D1, D2, D3에는 삼칠근 추출물의 관절염 예방 및 치료 효능이 나타나 있습니다. 따라서, 본원발명을 상기 D1, D2, D3과 차이가 나는 "삼칠근 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물"을 유효성분으로 하는 조성물로 보정하였습니다.

이 경우, D1에는 추출 용매의 하나로 에탄올이 소개되어 있는데, 보정된 본원발명은 D1과 같은 에탄올 추출물에 그치지 않고, 이 에탄올 추출물을 n-부탄올로 분획하고, 이를 다시 정제한 것이고, 이 점에서 두 가지의 기술적 특징을 추가적으로 갖는 구성적 특징이 있습니다.

나. 본원발명과 D1, D2, D3의 목적 내지 효과의 대비

위에서 설명한 구성상의 차이로 인하여 본원발명의 "삼칠근 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물"이 D1의 "삼칠근의 에탄올 추출물"로부터 예측되는 효과에 비해 우수한 약리효과를 나타내는 점을 입증하는 실험 데이터를 참고자료로 제출하며, 아래에서는 이에 대해 설명드리겠습니다. D2와 D3 역시 삼칠근의 총 사포닌에 불과하므로, 이러한 총 사포닌의 에탄올과 같은 용매를 이용한 조추출물(crude extract)은 본원발명의 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물보다 약학적 효과가 낮게 됩니다. 본원발명에서 삼칠근 조추출물(에탄올 추출물)은 RF1M, 삼칠근 조추출의 부탄올 분획물은 RF1MB, 삼칠근 조추출물의 부탄올 분획 정제물은 RF1MB4b로 표시합니다.

1) 삼칠근 추출물에 의한 종양-괴사인자-알파(TNF- α) 유리 억제 및 세포 독성 억제 효과

참고자료의 표 1과 도 1을 살펴보겠습니다.

먼저 1mg/ml 농도에서 TNF- α 유리량은 RF1M은 2.2pg/ml, RF1MB는 1.7pg/ml, RF1MB4b는 1.5pg/ml로서 RF1MB4b가 RF1M보다 약 1.5배나 높은 TNF- α 유리 억제 효과를 나타냄을 알 수 있습니다.

한편, 2mg/ml 농도에서 TNF- α 유리량은 RF1M은 1.1pg/ml, RF1MB는 1.9pg/ml, RF1MB4b는 1.8pg/ml로서 이 경우에는 RF1MB4b가 RF1M보다 더 낮은 TNF- α 유리 억제 효과를 보입니다. 그러나, 2mg/ml 농도에서의 세포 독성 특성을 함께 살펴보면, RF1M은 65.8%, RF1MB는 80.3%, RF1MB4b는 90.0%로서 RF1MB4b가 RF1M에 비해 약 1.5배나 높은 세포 생존율을 보이고 있습니다. 따라서, 높은 농도에서 RF1M이 낮은 TNF- α 유리량을 보여준다고 하더라도, 그 대신 세포 독성이 너무 높으므로 사실상 무의미한 특성이 되어 버립니다. 반면, RF1MB4b는 높은 농도에서도 세포 독성이 증가하지 않으면서도 훌륭한 TNF- α 유리 억제 효과를 보이는 장점이 있습니다.

2) 삼칠근 추출물에 의한 제2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관절염 예방 및 치료 효과

참고자료의 표 2, 3 및 도 2를 살펴보겠습니다.

먼저, 관절염 발병 시기를 보면, RF1M이 4.9일, RF1MB가 6.0일, RF1MB4b가 11.0일로서 RF1MB4b가 RF1M보다 2배 이상의 우수한 효과를 보임을 알 수 있습니다.

다음으로, 관절염 지수를 보면, 15일을 기준으로 RF1M은 대조군과 비교할 때 거의 효과를 보이지 않는 것을 알 수 있습니다. 그리고, RF1MB와 RF1MB4b는 15일을 기준으로 비교할 때는 각각 6.2, 6.7로 양자간에 큰 차이가 없지만, 그보다 짧은 약물투여일수(6일, 9일 등)에서는 RF1MB4b의 효과가 RF1MB보다 훨씬 뛰어남을 알 수 있습니다.

결국, RF1MB4b는 짧은 시간 동안의 약물 투여로 탁월한 관절염 예방 및 병적 진행 억제 효과를 얻을 수 있음을 알 수 있습니다.

3) 정리

위에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의한 삼칠근 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물(RF1MB4b)은 류마티스성 관절염의 원인중 하나인 염증성 물질, 종양괴사인자-알파의 유리 억제 능력이 우수하고, 삼칠근의 다른 추출물인 RF1M, RF1MB 분획과 비교하여 세포 독성이 없음을 확인하였습니다. 또한, RF1MB4b는 관절염 질환 동물에서도 관절염의 발병 및 병적 진행을 억제하는 예방 및 치료 효과가 삼칠근의 다른 추출물인 RF1M, RF1MB 분획과 비교하여 우수합니다. 따라서, 본원발명의 삼칠근 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물은 D1, D2, D3에서와 같은 조추출물에 비해 훨씬 뛰어난 효과를 보이므로, 이 점에서 본원발명은 진보성이 인정되어야 할 것입니다.

[참고자료]

삼칠근 추출물(RF1M, RF1MB, RF1MB4b)의 약리효과 비교 실험 데이터

<삼칠근 추출물의 제조> (명세서 내용과 동일)

삼칠근은 재배산으로 시중의 건재상에서 구입하여 사용하였다. 절편시킨 삼칠근을 분말로 분쇄하여 분말 200 g을 3 l 플라스크에 넣고 에틸알코올 2,000 ml을 이용하여 78.5℃에서 환류 교반시키면서 4시간 동안 가열 추출을 3회 반복 실시하였다. 상기 가열 추출액을 여과한 후, 40℃ 이하에서 회전식 진공농축증발기(vacuum rotary evaporator)를 사용하여 진공 감압농축시킴으로써 삼칠근 분말 2.7 g이 포함된 최초 조추출물을 수득하여 이 분획을 RF1M으로 명명하였다(삼칠근 분말에 대한 수율: 1.35%). 상기 조추출물, RF1M 을 추가적으로 상온에서 노말 부탄올(n-butanol) 500 ml로 분획용 깔대기를 사용하여 3회 반복 용매 분획하여 분획을 얻은 후 이를 RF1MB로 명명하였다. 이 RF1MB 분획을 컬럼 크로마토그래피를 이용하여 RF1MB4 분획을 추출하였으며, 상기 RF1MB4 분획에 대하여 추가적으로 컬럼 크로마토그래피를 수행하여 삼칠근 추출물의 최종 분획을 제조하여 이를 RF1MB4b로 명명하였다. 이하의 실시예에서는 삼칠근 추출물의 최종 분획, 즉 RF1MB4b 을 농축하여 동결건조한 후, 물에 희석시켜 시험관 내(*in vitro*) 및 동물 실험을 수행하였다.

<실험 1> 삼칠근 추출물에 의한 종양 괴사인자-알파(TNF- α) 유리 억제 실험

상기 <삼칠근 추출물의 제조>에서 분리한 삼칠근 추출물이 사람의 종양 괴사인자-알파(TNF- α) 유리에 미치는 영향을 알아보기 위하여, 하기와 같은 실험들을 실시하였다.

<1-1> 사람의 말초 혈액 단핵구 세포 분리

건강한 사람의 정맥으로부터 혈액을 20ml 채취하여 52ml의 tube에 넣은 후 3ml의 ACD-A 용액과 PBS 23ml을 순서대로 넣어 천천히 섞은 후 Histopaque (Sigma) 30.7ml이 들어 있는 tube에 천천히 서로 섞이지 않도록 넣어 주었다. 400g에서 30분간 원심 분리하였다. 원심 분리 후 단핵구층의 세포들을 취해 혈청이 없는 RPMI 1640 배지 20ml을 넣어 250g에서 10분간 원심 분리하였다. 두 번 세

척 후 1×10^6 cell/ml로 RPMI 1640(Gibco, BRL, USA)에 FBS(fetal bovine serum)를 10 % 첨가한 배지에서 24시간 동안 배양하였다.

<1-2> 종양 괴사인자-알파(TNF- α)의 유리량 측정

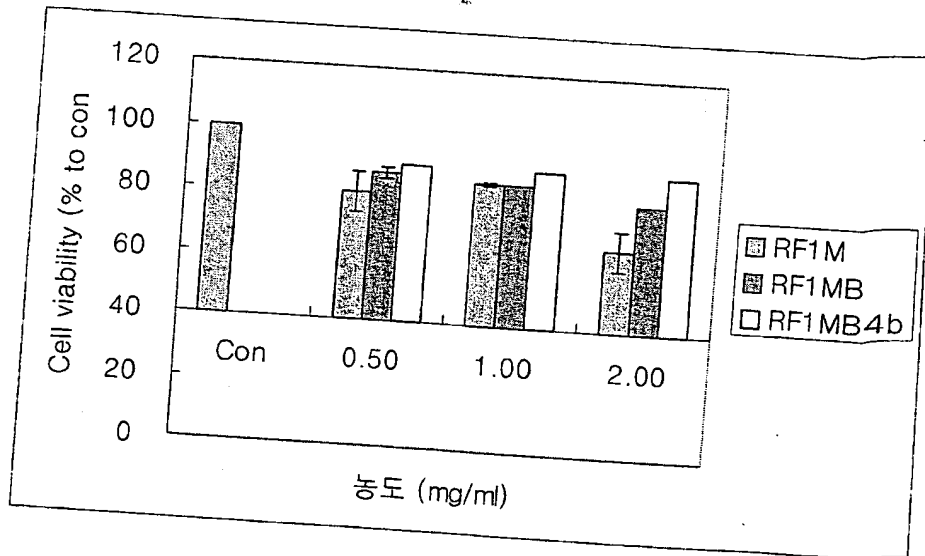
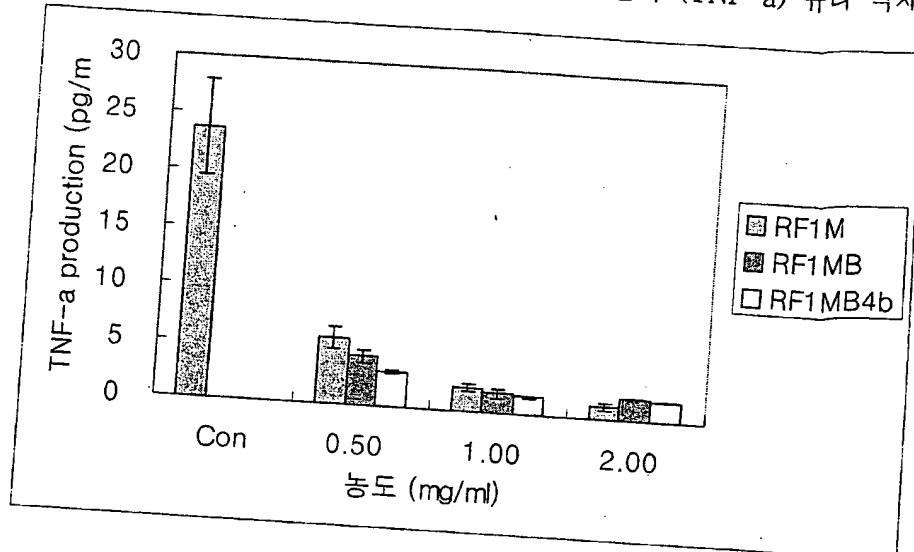
삼칠근 추출물이 사람의 종양 괴사인자-알파(TNF- α) 유리에 미치는 영향을 알아보기 위하여, <1-1>에서 기술한 방법으로 준비된 세포를 이용하여 사람의 종양 괴사인자-알파(TNF- α)의 유리량을 효소면역 측정법(ELISA)으로 측정하였다. 구체적으로, 96-웰 플레이트(well plate)에 <1-1>에서 기술한 방법으로 준비된 세포를 ml당 5×10^5 개가 되도록 세포를 분주하고, lipopolysaccharide (LPS)를 첨가하여 종양괴사인자-알파(TNF- α)가 유리되도록 세포를 활성화시켰다. LPS와 동시에 시험군에는 <삼칠근 추출물의 제조>에서 제조한 삼칠근 추출물을 0.5mg/ml, 1mg/ml, 2mg/ml 농도로 처리하여 18시간 동안 배양한 후 세포 배양액 안의 종양괴사인자-알파(TNF- α)의 양을 효소 면역 측정법(ELISA)으로 측정하였다.

상기 과정에 의한 삼칠근 추출물의 종류와 농도에 따른 종양괴사인자-알파(TNF- α)의 유리량과 세포 독성을 표 1 및 도 1에 나타내었다. 표 1 및 도 1에 나타난 바와 같이 삼칠근 추출물의 최종 분획(RF1MB4b)을 처리한 경우, 최고 농도에서 90% 이상 종양괴사인자-알파(TNF- α)의 유리를 억제하였으며, 세포 독성 또한 관찰되지 않았다. 이로부터 삼칠근 추출물의 최종 분획(RF1MB4b)을 처리한 경우에 삼칠근 다른 추출물들(RF1M, RF1MB)에 비하여 세포 독성이 적고, 종양괴사인자-알파(TNF- α)의 유리를 억제하는 효능이 뛰어남을 확인하였다(도 1).

<표 1> 삼칠근 추출물에 의한 종양 괴사인자-알파 (TNF- α) 유리 억제와 세포 독성을 나타낸 표

| 삼칠근 추출물 | 농도 (mg/ml) | TNF- α 유리량 (pg/ml) | 세포 독성 (세포 생존율, %) |
|-----------------|------------|---------------------------|----------------------|
| 대조군 | | 23.7 \pm 4.2 | 100 \pm 0.0 |
| 삼칠근 조추출물 (RF1M) | 0.5 | 5.8 \pm 1.0 | 80.6 \pm 6.3 |
| | 1 | 2.2 \pm 0.3 | 85.0 \pm 0.5 |
| | 2 | 1.1 \pm 0.3 | 65.8 \pm 6.4 |
| RF1MB | 0.5 | 4.3 \pm 1.8 | 87.1 \pm 6.3 |
| | 1 | 1.7 \pm 0.6 | 85.2 \pm 1.7 |
| | 2 | 1.9 \pm 0.4 | 80.3 \pm 0.0 |
| RF1MB4b | 0.5 | 3.1 \pm 0.7 | 90.0 \pm 0.0 |
| | 1 | 1.5 \pm 0.1 | 90.0 \pm 0.0 |
| | 2 | 1.8 \pm 0.1 | 90.0 \pm 0.0 |

【도 1】 삼칠근 추출물에 의한 종양 괴사인자-알파 (TNF-a) 유리 억제 실험



mice. Nature 283: 666-668. 1980).

상기 과정에 의한 삼칠근 추출물을 제 2형 콜라겐 유도 관절염 실험 동물에 경구 투여 한 후의 관절염의 병적 진행을 억제하는 치료 효과를 표 2와 3, 그리고 도 2에 나타내었다. 이로부터 본 발명의 삼칠근 추출물 최종 분획(RF1MB4b)을 경구 투여한 경우, 삼칠근의 다른 추출물들(RF1M, RF1MB)에 비하여 약물을 투여한 후 9일째부터 관절염의 병적 진행이 현저하게 억제됨을 확인할 수 있었고, 관절염의 발병 시기를 지연시키는 효능이 우수함을 관찰하였다. 따라서, 본 발명의 삼칠근 추출물 최종 분획(RF1MB4b)이 관절염의 병적 진행을 효과적으로 억제하는 치료 효과가 있음을 확인하였다 (표 2와 3, 도 2).

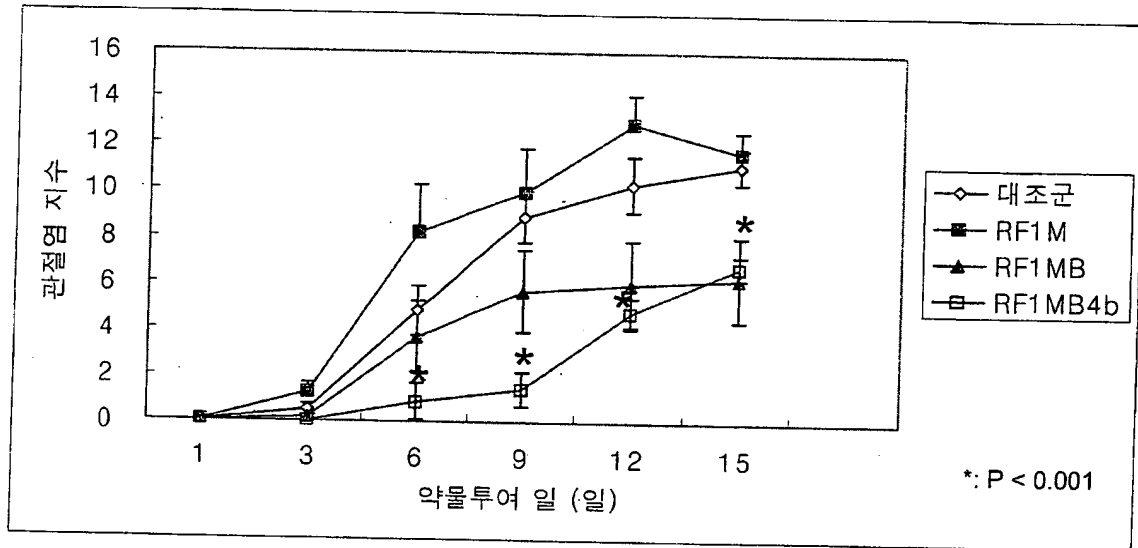
<표 2> 삼칠근 추출물들에 의한 제2형 콜라겐 유도 관절염 실험 동물에서
관절염 발병 시기

| 투여 약물 | 발병 시기 (day \pm SE) |
|-----------------|----------------------|
| 대조군 | 5.1 \pm 0.3 |
| 삼칠근 조추출물 (RF1M) | 4.9 \pm 0.5 |
| RF1MB | 6.0 \pm 0.2 |
| RF1MB4b | 11.0 \pm 0.5 |

<표 3> 삼칠근 추출물에 의한 제2형 콜라겐 유도 관절염 실험 동물에서
관절염 예방 및 병적 진행 억제 효과 (관절염 지수)

| 투여 약물 | 약물 투여 일 (day) | | | | | |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|----------------|----------------|
| | 0 | 3 | 6 | 9 | 12 | 15 |
| 대조군 | 0.0 \pm 0.0 | 0.5 \pm 0.2 | 4.8 \pm 1.1 | 8.9 \pm 1.1 | 10.3 \pm 1.2 | 11.1 \pm 0.7 |
| 삼칠근 조추출물 (RF1M) | 0.0 \pm 0.0 | 1.3 \pm 0.4 | 8.2 \pm 2.0 | 10.0 \pm 1.9 | 12.9 \pm 1.2 | 11.7 \pm 0.9 |
| RF1MB | 0.0 \pm 0.0 | 0.1 \pm 0.1 | 3.7 \pm 1.5 | 5.6 \pm 1.8 | 6.0 \pm 1.9 | 6.2 \pm 1.8 |
| RF1MB4b | 0.0 \pm 0.0 | 0.0 \pm 0.0 | 0.9 \pm 0.8 | 1.4 \pm 0.8 | 4.7 \pm 0.7 | 6.7 \pm 0.5 |

【도 2】 삼칠근 추출물에 의한 제2형 콜라젠 유도 관절염 실험 동물에서
관절염 예방 및 병적 진행 억제 효과 (관절염 지수)





91998000385900A7028000000000050307PCTKR2004002255
[별지 제65호의54 서식]

| | | |
|-------|-----|-------|
| P C T | | |
| 방식심사관 | 담 당 | 심 사 관 |
| | | |

【Title of Document】 SUBMISSION OF ARGUMENT

【Receiver】 Commissioner of the Korean Intellectual Property Office

【Identification of International Application】

【International Application No.】 PCT/KR2004/002255

【International Filing Date】 2004.09.06

【Priority Date】 2003.09.06

【Applicant】

【Name】 OSCOTEC INC. et al.

【Address】 2-17, Omok-ri, Seonggeo-eup, Cheonan-si,

Chungcheongnam-do 330-831, Republic of Korea

【Tel. No.】 82-2-3453-0507

【Applicant 's code】 1-1999-036103-0

【State of Nationality】 KR

【Agent】

【Name】 LEE, Won-Hee

【Address】 8th F1, Sung-ji Heights II, 642-16 Yoksam-dong

Kangnam-ku, Seoul 135-080, Republic of Korea

【Tel. No.】 82-2-3453-0507

【Fax No.】 82-2-3453-8155

【Agent 's Code】 9-1998-000385-9

【Date of Invitation】 2005.10.25

【Purport】 Submitted hereby is an argument or correction pursuant to

Article 106-40(5) of the Enforcement Regulations of the

Patent Law.

Agent

LEE, Won-Hee (Seal)



【Attached Document(s)】 1.other attached document_1Copies

의견내용

I. 국제예비심사기관의 견해서 내용 요약

Box V. 규칙 66.2(a)(ii)에 의거한 신규성, 진보성 및 산업상 이용가능성에 관한 진술; 이 진술을 뒷받침하는 인용문헌 및 설명

2005년 8월 3일의 서신과 함께 제출된 보정은 원출원의 개시 내용을 벗어나지 않았다.

본 발명은 삼칠근의 에탄올 추출물의 부탄을 분획 정제물을 유효 성분으로 포함하는 관절염 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

다음 문서들이 본 견해서 작성에 고려되었다.

D1 = JP 11-139979 A (1999. 5. 25)

D2 = Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi, 14(1), 35-6, 5-6 (1994)

D3 = Zhongguo Yao Li Xue Bao, 20(6), 551-4 (1999)

1) 신규성 & 진보성

D1은 *Panax notoginseng*의 조추출물을 유효 활성 성분으로 함유하는 면역계 억제 및 만성 류머티스 관절염의 예방 및 치료용 조성물을 개시한다.

D2는 *Panax notoginseng*의 총 사포닌이 항염증, 진통 및 면역조절 효과를 가진다고 기술한다.

D3은 *Panax notoginseng*의 총 사포닌이 급성 염증 rat 모델에서 항염

증 효과를 보임을 진술하고 있다.

인용문헌 D1-D3이 본 발명과 관계되어 있기는 하지만, 이들은 본 발명의 삼칠근 에탄올 추출물의 부탄올 분획 정제물을 활성 성분으로 개시하지 않는다.

2005. 8. 3일자로 출원인이 제출한 실험 결과를 볼 때, 본 발명의 삼칠근 추출물의 부탄올 분획 정제물(RF1MB4b)은 D1-D3의 Panax notoginseng의 조추출물(RF1M) 또는 부탄올 분획(RF1MB)보다 치료 효과가 우수하다.

그러므로, 청구범위 1-4에 청구된 발명은 신규하며 창의성 있는 단계를 포함하는 것으로 판단된다 (PCT 제33(2)조 및 제33(3)조).

2) 산업상 이용가능성

청구범위 1-4는 PCT 제33(4)조에 규정된 조건을 만족한다.

Box VIII. 국제출원에 관한 기타 견해

청구항, 상세한 설명 및 도면의 명료성 또는 청구항이 상세한 설명에 의해 충분히 뒷받침되는지에 대한 다음 견해를 피력한다.

1) 청구범위 1 및 2는 PCT 제6조의 명료성 요구사항을 만족시키지 못한다. 그 이유는 “purified form”이라는 모호한 표현이 청구범위의 정확한 범위를 결정하기 어렵게 만들기 때문이다.

2) 본 출원은 상세한 설명이 RF1MB4b의 물리화학적 성질에 대해 어떠한 설명도 포함하고 있지 않아 불명확하다.

II. 청구의 범위의 보정

견해서상의 Box. VIII에서의 견해 내용을 극복하기 위해, 다음과 같이 청구의 범위를 다시 보정하였습니다.

1. A composition for preventing and treating arthritis comprising butanol fraction of extract of *Notoginseng radix* extracted by water, ethanol or a mixed solvent of water and ethanol as an effective ingredient.
2. A pharmaceutical composition for preventing and treating arthritis comprising the composition of claim 1.
3. A health food composition for preventing and treating arthritis comprising the composition of claim 1.

III. 출원인의 의견

상기 보정된 청구항들에 의해 청구되는 조성물의 범위는 삼칠근의 물, 에탄올 또는 이들의 혼합용매와 같은 수용성 용매 추출물로부터 지용성의 부탄올로 다시 분획하여 얻어지는 성분입니다. 이 성분은 수용성 추출물로부터 얻어지는 지용성 분획이라는 점에서, 종래기술의 단순 에탄올 추출물에 관한 기재로부터는 용이하게 도출해 내기 어려운 성분입니다.

또한, 이 성분은 명세서 내 기재내용에 의해 그 제조방법 및 물리화학적 성질을 명확히 특정지을 수 있음이 명확하여 Box. VIII의 지적사항을 극복하였습니다. 이하 지난 번 1차 의견서 제출시 제출한 참고자료를 참조하며 단순 에탄올 추출물(도 1의 RF1M)보다 부탄올 분획(RF1MB) 및 그 정제물(RF1MB4b)이 우수한 약리효과를 가짐을 설명드리도록 하겠습니다.

1) 삼칠근 추출물에 의한 종양-괴사인자-알파(TNF- α) 유리 억제 및 세포 독성 억제 효과

참고자료의 표 1과 도 1을 살펴보겠습니다.

먼저 1mg/ml 농도에서 TNF- α 유리량은 RF1M은 2.2pg/ml, RF1MB는 1.7pg/ml, RF1MB4b는 1.5pg/ml로서 RF1M보다 RF1MB는 약 1.2배, RF1MB4b는 약 1.5배나 높은 TNF- α 유리 억제 효과를 나타냄을 알 수 있습니다.

한편, 2mg/ml 농도에서 TNF- α 유리량은 RF1M은 1.1pg/ml, RF1MB는 1.9pg/ml, RF1MB4b는 1.8pg/ml로서 이 경우에는 오히려 RF1MB, RF1MB4b가 RF1M보다 더 낮은 TNF- α 유리 억제 효과를 보입니다. 그러나, 2mg/ml 농도에서의 세포 독성 특성을 함께 살펴보면, RF1M은 65.8%, RF1MB는 80.3%, RF1MB4b는 90.0%로서 RF1M보다 RF1MB는 약 1.2배, RF1MB4b는 약 1.5배나 높은 세포 생존율을 보이고 있습니다. 따라서, 비록 높은 농도에서 RF1M이 낮은 TNF- α 유리량을 보여주는 하지만, 그 대신 세포 독성이 너무 높으므로 사실상 무의미한 특성이 되어 버립니다. 반면, RF1MB, RF1MB4b는 높은 농도에서도 세포 독성이 증가하지 않으면서도 훌륭한 TNF- α 유리 억제 효과를 보이는 장점이 있습니다.

2) 삼칠근 추출물에 의한 제2형 콜라겐 유도 관절염 실험동물에서 관절염 예방 및 치료 효과

참고자료의 표 2, 3 및 도 2를 살펴보겠습니다.

먼저, 관절염 발병 시기를 보면, RF1M이 4.9일, RF1MB가 6.0일, RF1MB4b가 11.0일로서 RF1M보다 RF1MB는 약 1.2배, RF1MB4b는 약 2배 이상의 우수한 효과를 보임을 알 수 있습니다.

다음으로, 관절염 지수를 보면, 15일을 기준으로 RF1M은 11.7로서 대조군의 11.1과 비교할 때 유의적인 효과를 보이지 않는 것을 알 수 있습니다. 반면, RF1MB와 RF1MB4b는 15일을 기준으로 비교시 각각 6.2, 6.7로서 대조군은 물론 RF1M보다 약 2배 가까운 우수한 관절염 예방 및 치료 효과를 보임이 명백합니다.

3) 정리

위에서 살펴본 바와 같이, 본 발명에 의한 삼칠근 에탄올 추출물의 부

탄을 분획(RF1MB) 및 그 정제물(RF1MB4b)은 류마티스성 관절염의 원인 중 하나인 염증성 물질, 종양괴사인자-알파의 유리 억제 능력이 우수하고, 삼칠근의 조추출물인 RF1M과 비교하여 세포 독성이 없음을 확인하였습니다. 또한, RF1MB 및 RF1MB4b는 관절염 질환 동물에서도 관절염의 발병 및 병적 진행을 억제하는 예방 및 치료 효과가 삼칠근의 조추출물인 RF1M과 비교하여 우수합니다. 결국, 본원발명에 의한 조성물은 인용참증에서와 같은 조추출물에 비해 훨씬 뛰어난 효과를 보이므로, 이 점에서 본원발명은 진보성이 인정되어야 할 것입니다.